RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Comunicazioni pervenute all'Accademia durante le ferie del 1913.
Estratto dal vol. XXII, serie 5ª. 2° sem., fasc. 6°. — Roma settembre 1913.

17

SOPRA
ALCUNE PROPRIETÀ COLLOIDALI DELLA EMOGLOBINA

MODIFICAZIONI DELLA VISCOSITÀ
E DELLA TENSIONE SUPERFICIALE DI SOSPENSIONI DI METEMOGLOBINA
PER L'AZIONE DI HCL E DI NaOH

NOTA 2

DEL CORRISP.
FILIPPO BOTTAZZI



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI
1913



17

Chimica fisica. — *Sopra alcune proprietà colloidali della emoglobina. Modificazioni della viscosità e della tensione superficiale di sospensioni di metemoglobina per l'azione di* HCl *e di* NaOH [1]. Nota II del Corrisp. FILIPPO BOTTAZZI [2].

La metemoglobina pura, precipitata mediante dialisi prolungata di una soluzione acquosa di ossiemoglobina [3], è un materiale ottimo per indagare le modificazioni di viscosità e di tensione superficiale che una sospensione subisce quando la sostanza si scioglie sotto l'influenza di acidi o di alcali; perchè, mentre la metemoglobina preparata nel modo detto è affatto insolubile in acqua, dà poi una soluzione limpidissima quando la si tratta con un acido (per es. HCl) o con una base (per es. NaOH) in quantità sufficiente. Sciogliendosi, la metemoglobina si trasforma, nel primo caso in cloruro di metemoglobina, nel secondo in metemoglobinato di sodio: due composti salini, dei quali il secondo è notevolmente più dissociabile.

Inoltre si sa [4], che per l'aggiunta di un eccesso di NaCl al cloruro di metemoglobina o al metemoglobinato sodico, la sostanza sciolta precipita. Ora non mi sembra privo d'interesse il vedere come si modifichino la viscosità e la tensione superficiale delle soluzioni in simili condizioni.

Ho fatto i seguenti esperimenti: Preparata una sospensione unica di metaemoglobina precipitata in forma di minuti granuli, da questa ho preso via via le porzioni che mi sono servite per le ricerche di tensione superficiale (« numero di gocce », quasi sempre dallo stesso stalagmometro) e per le poche determinazioni di viscosità (« tempo di deflusso » per lo stesso viscosimetro di Ostwald e alla stessa temperatura). Determinato il « numero di gocce » della sospensione originale, volta per volta, ho aggiunto a gocce le

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di fisiologia di Napoli.

(2) Pervenuta all'Accademia il 24 agosto 1913.

(3) Circa la preparazione della metemoglobina e la proprietà di questa sostanza come fu da me ottenuta, ved. Rend. R. Accad. dei Lincei (ser. 5a), vol. 22, pag. 141 (1913).

(4) loc. cit.

soluzioni (per lo più 0,1 e 0,2 *n*) di HCl e di Na OH, avendo già calcolato quante gocce occorrevano di ciascuna soluzione per fare 1 cm³. Naturalmente, il volume originale della sospensione veniva così ad essere aumentato del volume totale di soluzione aggiunta. Siccome, però, le soluzioni adoperate di HCl e di Na OH per sè stesse hanno una tensione superficiale quasi eguale a quella dell'acqua, e la semplice diluzione della sospensione o della soluzione di metemoglobina non potrebbe avere per effetto che di aumentarne la tensione superficiale e diminuirne la viscosità (poichè, come si vedrà, l'effetto è, in realtà, opposto); si deve conchiudere che le modificazioni osservate non sono essenzialmente dovute alla detta diluizione.

Oltre che su sospensioni, ho sperimentato anche sopra soluzioni di metaemoglobina non dializzata, tanto da provocare la precipitazione della sostanza; e sopra queste soluzioni contenenti metemoglobina sospesa.

Esperienza I. — Stalagmometro che dà 40,5 gocce di acqua alla temper. 22°,5 C.

		Gocce	Temp.	
Sospensione di metemoglobina cm³ 10	. . . .	40,3	23° C	
» » »	+ cm³ 0,125 Na OH 0,1 *n*	40,8	»	
» » »	+ » 0,125 » »	40,9	»	
» » »	+ » 0,125 » »	41,2	»	
» » »	+ » 0,125 » »	41,8	23°,5	
» » »	+ » 0,125 » »	42,0	»	
» » »	+ » 0,125 » »	42,8	»	
» » »	+ » 0,150 » »	43,5	»	La sospensione si è notevolmente chiarificata.
» » »	+ » 0,150 » »	43,8	»	
» » »	+ » 0,125 » »	44,2	22°,5	Il liquido è divenuto limpido e viscoso
» » »	+ » 0,550 » »	45,5	»	
» » »	+ » 0,650 » »	44,5	»	

Esperienza II. — Stalagmometro che dà 40,5 gocce di acqua alla temper. 23°,8 C.

		Gocce	Temp.
Sospensione di metemoglobina cm³ 10	. . . .	40,5	23,8° C
» » »	+ 4 gocce soluz. 0,2 *n* Na OH	41,0-42,5	»
» » »	+ 4 » » »	43,2-45,1	»
» » »	+ 4 » » »	45,2-45,4	24° C
» » »	+ 12 » » »	41,6-40,6	»
» » »	+ 8 gocce soluz. Na OH *n*	46,0 46,5	»
» » »	+ 8 » » »	47,2-47,2	»
» » »	» (il giorno seguente)	47,2	»

Esperienza III. — Stalagmometro che dà 40,5 gocce d'acqua alla temper. 23° C.

		Gocce	Temp.
Soluzione di metemoglobina con metemoglobina sospesa cm³ 10		44,0-44,5	23° C
» » »	+ 1 goccia soluz. 0,2 *n* Na OH	44	»
» » »	+ 1 » » »	43,8-43,5	»

					Gocce	Temp.
Soluzione di metemoglobina	+ 1	goccia	soluz.	0,2 n Na OH	43,6-44,3	23° C
» » »	+ 1	»	»	»	44,6-44,6	»
» » »	+ 1	»	»	»	44,8-44,9	Liquido sempre torbido
» » »	+ 1	»	»	»	45,2-45,3	»
» » »	+ 1	»	»	»	45,5-46,3	»
» » »	+ 1	»	»	»	46,4	»
» » »	+ 1	»	»	»	46,6-46,8	Liquido più rosso, ma torbido
» » »	+ 1	»	»	»	47,0-47,5	»
» » »	+ 1	»	»	»	47,5-47,8	»
» » »	+ 1	»	»	»	47,5-47,8	Liquido più chiaro
» » »	+ 2	gocce	»	»	47,5	»
» » »	+ 3	»	»	»	47,8-48,2	Liquido del tutto limpido
» » »	+ 3	»	»	»	47	23° C
» » »		»	(dopo due ore)		47,8	»

I resultati di questo esperimento sono serviti per costruire la curva della fig. 1.

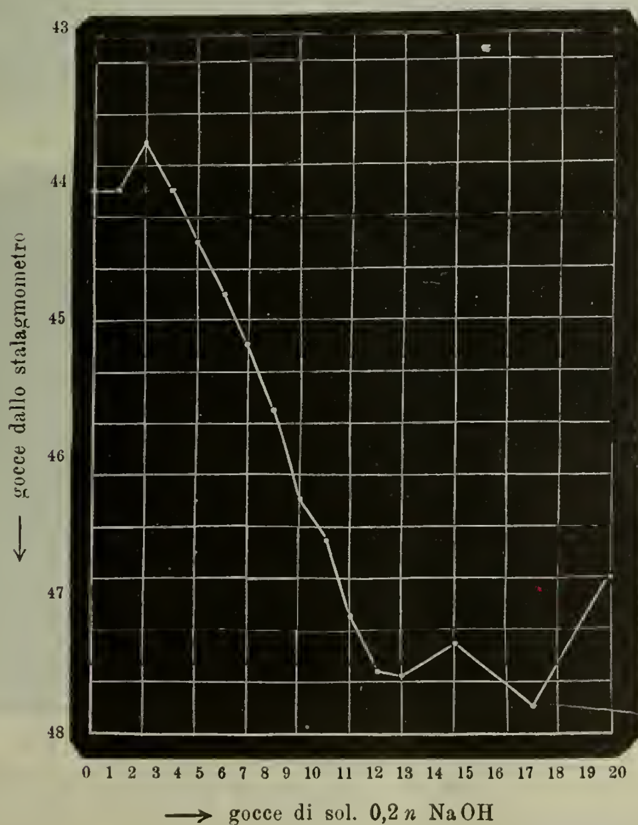


Fig. 1

Esperienza IV. — Stalagmometro che dà gocce 40,5 di acqua alla temper. 23° C. Viscosimetro che dà per l'acqua un tempo di deflusso $t = 1' 17'' \, ^2/_5''$ a 23° C.

		Gocce	t	Temp.
Sospensione di metemoglobina cm³ 10	. . . .	40,5	1' 18"	23° C
» » »	+ 10 gocce soluz. 0,1 n HCl	42,2	1' 22"	»
» » »	+ 10 » »	47,4	1' 49" $^1/_5$	»
	Il liquido si è quasi del tutto chiarificato			
» » »	+ 10 » »	53,5	1' 37" $^2/_5$	»
» » »	+ 10 » »	54,2	1' 31" $^1/_5$	»
» » »	+ 10 » »	52 5	1' 25" —	»
» » »	+ 20 gocce sol. 0,1 n NaOH	54,6	1' 21" $^1/_5$	»
» » »	+ 20 » »	52,2	1' 18" —	»
» » »	+ 10 » »	48,3	1' 18" —	»
	Il liquido incomincia a intorbidarsi			
» » »	+ 5 » »	45 (?)		
	Man mano si forma un precipitato granuloso così abbondante, che riesce impossibile determinare il numero delle gocce e il tempo di deflusso.			

Coi dati numerici di questo esperimento ho costruito la curva della fig. 2, che riguarda la tensione superficiale, e quella della fig. 3, che si riferisce alle modificazioni di viscosità.

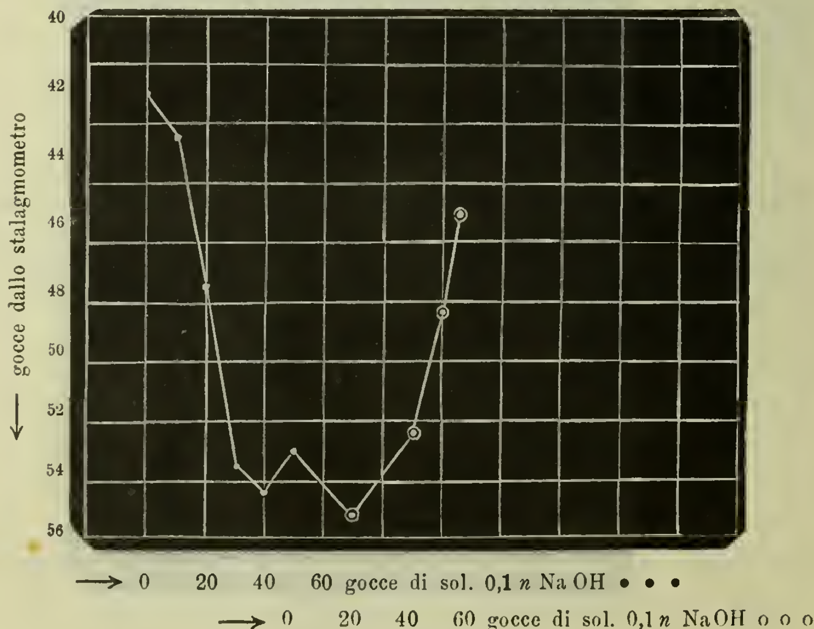


Fig. 2.

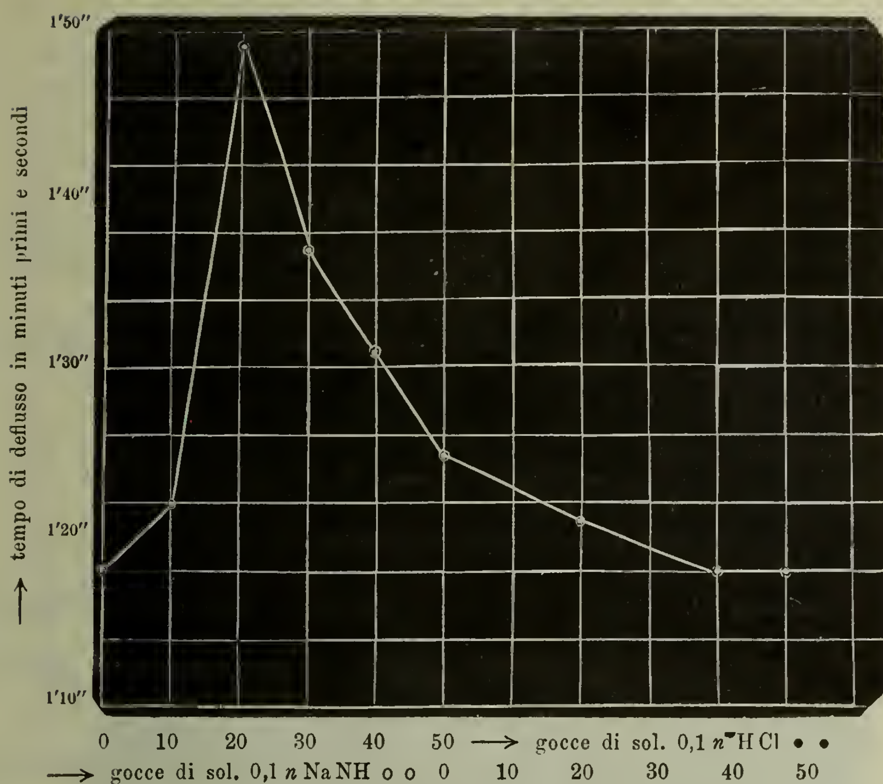


Fig. 3.

Esperienza V. — Stalagmometro che dà 40,5 gocce di acqua a 23° C.
Soluzione e sospensione di

			Gocce	Temp.	
a)	metemoglobina 10 cm³	. . . .	45,5-45,7	23° C	
b)	» »	+ 5 gocce soluz. 0,2 *n* NaOH	48,3	»	Liquido torbido
c)	» »	+ 15 » »	49,4	»	Liquido rosso-cupo
d)	» »	+ 25 » »	47,8	»	Soluzione limpida
e)	» »	+ 25 gocce soluz. 0,2 *n* HCl	48,5	»	Il liquido non s'intorbida
f)	» »	+ 10 » »	47,8	»	Il liquido si intorbida
g)	» »	+ 5 » »	48,8	»	Abbondante precipit.

Si lascia sedimentare il precipitato.

Il liquido soprastante dà ancòra 48,7 gocce.

Alla soluzione *c*) si aggiunge 1 gr. di NaCl in sostanza, e ve lo si fa sciogliere. La soluzione rimane limpida; essa dà 52,2 gocce.

Vi si sciolgono altri 2 gr. di NaCl in sostanza. Si forma abbondante precipitato. Si decanta il liquido soprastante; esso dà 53 $^1/_2$ gocce.

Si divide il liquido *d*) dell'esperimento precedente in due parti eguali.

Prima porzione: . . . . gocce 47,8
» Vi si aggiunge 1 goccia soluz. 2 *n* Na Cl » 48,7
» » 2 gocce » » » 48,7
» » 1 goccia » » » 48,7
» » 3 gocce » » » 50,1
» » 3 gocce » » » 50,8
Il liquido è notevolmente torbido

L'ulteriore aggiunta di soluz. 2 *n* di Na Cl non modifica il numero delle gocce. Il giorno seguente, si trova notevole quantità di precipitato sedimentato.

Il liquido soprastante dà . . . . gocce 49-50

Si aggiunge Na Cl in sostanza, tanto da precipitare quasi tutta la metemoglobina. Si lascia sedimentare il precipitato.

Il liquido soprastante dà . . . . gocce 52

Seconda porzione: . . . . gocce 47,8-48
Diluita con egual volume di acqua dà » 46,3-47,2
» » » » 45,5-44,8
Lo stesso liquido, il giorno seguente, dà » 46,2

Esperienza VI. — Stalagmometro che dà 40,5 gocce di acqua a 22°,5 C. La soluzione 2 *n* di Na Cl dà gocce 41,3.

Soluzione dializzata di metemoglobina poco concentrata contenente pochissima metemoglobina sospesa cm³ 10 . . . . gocce 44,6 temper. 22°,5 C
» » » + 2 cm³ sol. 2 *n* Na Cl » 45,3 » »
» » » + » » » » 45,3-46 » Il liq. s'intorbida

Esperienza VII. — Soluzione di metemoglobina, in due porzioni: a una si aggiungono quantità crescenti di NaOH; all'altra, quantità crescenti di HCl. Coi risultati ottenuti si costruisce l'unica curva della fig. 4.

Moli NaOH aggiunte per litro soluzione	Numero delle gocce	Moli HCl aggiunte per litro soluzione	Numero delle gocce
0,00000	$58\,^{1}/_{22}$	0,00000	58
0,00010	$58\,^{4}/_{22}$	0,00003	$58\,^{5}/_{22}$
0,00021	$58\,^{11}/_{22}$	0,00012	$58\,^{12}/_{22}$
0,00048	$59\,^{11}/_{22}$	0,00091	63
0,0100	62	0,00230	$63\,^{13}/_{22}$

Conclusioni. — Dagli esperimenti sopra riferiti resultano le seguenti conclusioni:

1. Le sospensioni acquose di metemoglobina pura (dializzata per quattro mesi o più) hanno una viscosità ed una tensione superficiale poco differenti da quelle dell'acqua distillata.

2. Quando la metemoglobina sospesa passa in soluzione, sotto l'influenza dell'HCl o della NaOH, la viscosità del liquido (che prima è una sospensione-soluzione, e da ultimo una soluzione perfetta) aumenta; la tensione superficiale diminuisce. La tensione superficiale raggiunge un valore, oltre il quale, per quanto acido o alcali venga poi aggiunto, non si abbassa più, cioè raggiunge un minimo, che sembra essere indipendente dalla concentrazione della metemoglobina sciolta, entro certi limiti. L'aggiunta ulteriore di un piccolo eccesso di acido o di alcali non esercita un'azione degna di nota sulla tensione superficiale (vedere figg. 1 e 2).

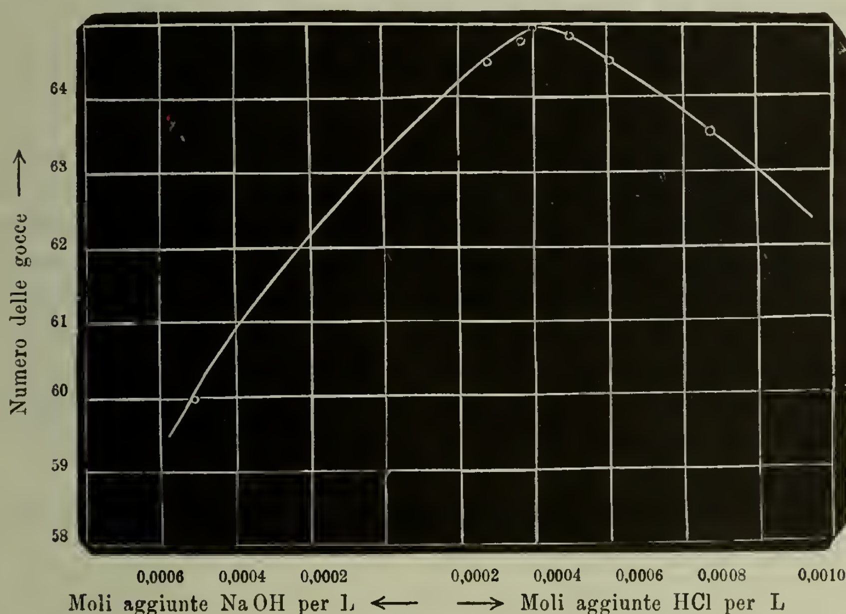


Fig. 4.

3. Neutralizzando l'acido con volumi eguali di alcali egualmente concentrato, o di alcali con acido, mentre la metemoglobina sciolta torna a precipitare, la tensione superficiale, già diminuita, torna ad aumentare.

4. La viscosità, aumentata per aggiunta di HCl, torna a diminuire notevolmente quando si aggiunga un eccesso di acido (fig. 3), e tende a raggiungere il valore primitivo, sebbene non si osservi precipitazione della sostanza sciolta. A spiegazione di questo fatto, si possono invocare i resultati analoghi ottenuti da varii autori in esperimenti sulla sieralbumina. L'eccesso di acido fa retrocedere la dissociazione del cloruro di metemoglobina, cioè fa diminuire la concentrazione dei metemoglobinioni, da cui dipende l'aumento della viscosità.

5. L'aggiunta di cloruro sodico alla soluzione di metemoglobinato sodico produce una ulteriore, piccola ma costante, diminuzione della tensione su-

perficiale (Esp. V); l'aggiunta dello stesso sale alla soluzione di metemoglobina pura (non dializzata fino a determinarne la precipitazione), non esercita un'azione analoga degna di nota.

6. Da precedenti esperienze (¹) resulta che, contrariamente alla viscosità, il cui aumento dipende dalla concentrazione attuale degli ioni proteici, l'abbassamento della tensione superficiale dipende principalmente dalle molecole di proteina non dissociate.

L'abbassamento della tensione superficiale da me osservato nelle sospensioni di metemoglobina in seguito all'azione dell'HCl o della NaOH, dipende essenzialmente dal passare della sostanza, sospesa, allo stato di soluzione. Eventuali variazioni della tensione superficiale di soluzioni di metemoglobina dipendenti, come quelle precedenti constatate da me in collaborazione col dott. E. d'Agostino in soluzioni di albumina, da variazioni dello stato di dissociazione della sostanza già sciolta, potranno essere messe in evidenza solo mediante ricerche più delicate, che non siano le presenti. Tuttavia, l'effetto che produce il cloruro sodico aggiunto a una soluzione di metemoglobinato sodico, che già ha raggiunto il minimo di tensione superficiale (effetto che consiste, come ho detto, in un'ulteriore abbassamento della tensione), mi pare che non possa spiegarsi se non ammettendo che esso sia la espressione di una parziale retrocessione della dissociazione del metemoglobinato, operata dai sodioni aggiunti, cioè della formazione di molecole indissociate di metemoglobinato sodico a spese dei rispettivi ioni.

(¹) Fil. Bottazzi e E. d'Agostino, Rend. R. Accad. dei Lincei (serie 5ª), vol. 21, pag. 561, an. 1912.